

⑬ 日本国特許庁 (JP)

⑭ 特許出願公開

⑯ 公開特許公報 (A)

昭57—98853

① Int. Cl.<sup>3</sup>  
G 01 N 27/40  
C 12 Q 1/00  
G 01 N 27/30  
// H 01 M 8/16

識別記号

庁内整理番号  
7363—2G  
7349—4B  
7363—2G  
7268—5H

② 公開 昭和57年(1982)6月19日

発明の数 1  
審査請求 未請求

(全 3 頁)

## ④ 酵素電極

① 特 願 昭55—176331

② 出 願 昭55(1980)12月12日

③ 発 明 者 今井章博

門真市大字門真1006番地松下電  
器産業株式会社内

④ 発 明 者 南海史朗

門真市大字門真1006番地松下電  
器産業株式会社内

⑤ 発 明 者 飯島孝志

門真市大字門真1006番地松下電  
器産業株式会社内

⑥ 出 願 人 松下電器産業株式会社

門真市大字門真1006番地

⑦ 代 理 人 弁理士 中尾敏男 外1名

## 明 細 書

## 1. 発明の名称

酵素電極

## 2. 特許請求の範囲

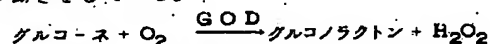
少なくとも酸化還元酵素と、この酵素の電子伝達体となるレドックス化合物と、電子集電体からなり、前記レドックス化合物が少なくともポリビニルピリジンを含むことを特徴とする酵素電極。

## 3. 発明の詳細な説明

本発明は、新規な電子伝達体を有する酵素電極に関する。

酵素は特定物質(基質)に対してある一定反応のみを起こさせる基質特異性および反応特異性をもつことが知られている。このような酵素の生化学的反応と電気化学的反応に関連させると対象物質の有無の検出ができ、また酵素を固定化した電極と対極との組み合わせによる電池の構成等に応用できる。本発明は、このような応用の一つである酵素電極に関する。

生体内のエネルギー変換には、酸化還元酵素が主に関与している。一般に酸化還元によって基質の酸化還元を行う場合、電子伝達体を必要とする。例えば、酵素としてグルコースオキシダーゼ(以下、GODと略す)を用い、グルコースの酸化反応を行わせる場合には、以下の反応式に示すように酵素  $O_2$  が電子伝達体、特に電子受容体としての働きをしている。



この酵素のように電子伝達体として知られているレドックス化合物としては、メチレンブルー、2,6-ジクロロインドフェノール、インジゴサルホネート、フェノサフラニン、フェナジンメトサルフェート、フェリシアン化カリ、ベンゾキノン、クロラニル等がある。

本発明は、この電子伝達体として働き親膜性も有する新規な化合物ポリビニルピリジンを用いるものである。ここでポリビニルピリジンとは、ビニルピリジンをモノマー単位として少なくとも1つ以上含む高分子化合物(オリゴマーといわれる

低重合体を含む)である。モノマー単位となるビニルビリジンは、種々の置換基を有していてもよい。ポリビニルビリジンとして例えば、ポリ-2-ビニルビリジン、ポリ-4-ビニルビリジン、2-ビニルビリジン-スチレン共重合体、4-ビニルビリジン-スチレン共重合体、ポリ-2-メチル-5-ビニルビリジン等である。

ポリビニルビリジンが電子伝達体として働く酸化還元酵素としては、フラビンアデニンヌクレオチド(FAD)を有する酵素が特に有効であった。電子集電体とは、導電性材料であり、例えばカーボン(グラファイトを含む)、白金、金、銀、酸化スズ、酸化インジウム等の良導電材料、半導体材料を用いることができる。

以下、本発明の実施例を説明する。

#### 実施例1

ポリ-2-ビニルビリジンとグラファイト粉末を約1:1の重量比で混合した後プレス成形して厚さ約1mmの円板状電極にした。この電極の片面にGODをグルタルアルデヒドによる架橋法で固

定化した。このGOD固定化電極を第1図に示した測定系にセットした。

第1図において、1はアルゴンガスの導入口、2は導出口、3は白金製対極、4はガラス多孔体からなるセパレータ、5は酵素電極、6は緩衝液、7は塩橋、8は飽和甘汞電極、9はKCl飽和水溶液である。

GOD固定化電極を飽和甘汞電極に対し、+0.4Vの定電位に設定した。緩衝液を十分アルゴンガスでバブリング後、グルコースを $1 \times 10^{-3} M/l$ 注入したところ、第2図に示すように、0.2  $\mu A$ のアノード電流増加が認められた。

#### 実施例2

4-ビニルビリジン-スチレン共重合体とグラファイト粉末から実施例1と同様にして厚さ約1mmの円板状電極を作製した。この電極の片面にGODをグルタルアルデヒドで架橋固定化した後実施例1と同様にしてグルコースに対する応答性を検討したところ、グルコース濃度 $2 \times 10^{-4} M/l$ に対して0.3  $\mu A$ のアノード電流増加が認められた。

#### 実施例3

4-ビニルビリジン-スチレン共重合体とグラファイト粉末から実施例1と同様にして厚さ約1mmの円板状電極を作製した。この電極の片面にL-アミノ酸オキシダーゼをグルタルアルデヒドで固定化した。この固定化電極を飽和甘汞電極に対し、+0.4の定電位に設定した。緩衝液を十分アルゴンガスでバブリングした後、L-α-アラニンを $5 \times 10^{-4} M/l$ 注入したところ、0.02  $\mu A$ のアノード電流増加が認められた。

従来、多くのレドックス化合物が水に溶解しやすいため、集電体、レドックス化合物、酵素を一体化した電極を構成しにくかったが、ポリビニルビリジンは水に不溶性のためこの点問題がない。また、親水性があるため他のレドックス化合物と組み合わせる海綿の電子伝達能の優れた電極を構成することもできる。

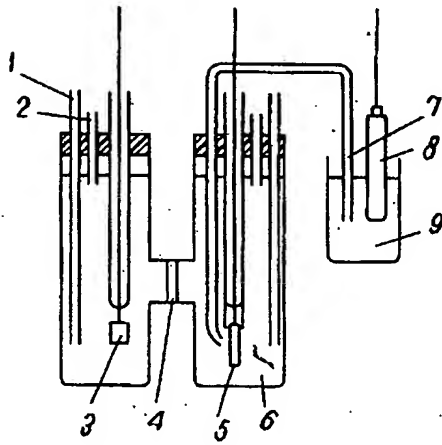
以上のように、本発明は新規なレドックス化合物を用いることにより、有効に酵素機能を利用できる。

#### 4. 図面の簡単な説明

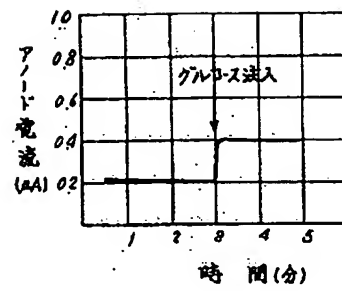
第1図は酵素電極を用いた測定系の構成を示す図、第2図はグルコース添加によるアノード電流の変化を示すグラフである。

代理人の氏名 弁理士 中 尾 敏 男 ほか1名

第 1 図



第 2 図



昭 63. 2. 26 発

特許法第17条の2の規定による補正の掲載

## 手続補正書

昭和62年11月25日

昭和55年特許願第 176331 号(特開昭  
57-98853 号, 昭和57年6月19日  
発行 公開特許公報 57-989 号掲載)につ  
いては特許法第17条の2の規定による補正があっ  
たので下記のとおり掲載する。 6(1)

特許庁長官殿

適

## 1 事件の表示

昭和55年特許願第 176331号

## 2 発明の名称

酵素電極

## 3 補正をする者

事件との関係

特許出願人

住所

大阪府門真市大字門真1006番地

名称

(582) 松下電器産業株式会社

代表者

谷井昭雄

## 4 代理人

〒571

住所

大阪府門真市大字門真1006番地

松下電器産業株式会社内

氏名

(5971) 弁理士 中尾敏男

(ほか1名)

(連絡先 電話(東京)437-1121 東京法律分室)

## 5 補正の対象

明細書の発明の詳細な説明の欄

特許庁  
62.11.26

## 6. 補正の内容

- (1) 明細書第3頁第16行と第17行の間に  
「酵素電極としてGOD固定化電極の例につい  
て説明する。」を加入します。
- (2) 同第4頁第11行の「第2図に示すように、」  
を「第2図に示すように、約10秒後に応答電  
流は一定となり、」に補正します。